

PRIMERAS OBSERVACIONES SOBRE LA COLONIZACIÓN DE PARASITOIDES INTRODUCIDOS PARA EL CONTROL DEL MINADOR DE HOJAS DE CÍTRICOS *Phyllocnistis citrella*

□ F. GARCÍA MARÍ, R. VERCHER Y J. COSTA COMELLES
J. BERNAT Y J. L. RIPOLLÉS
C. SERRANO, J. MALAGÓN Y F. ALFARO

INTRODUCCIÓN

En el marco del programa de investigación sobre el minador de hojas de cítricos impulsado por la Conselleria de Agricultura de la Generalitat Valenciana y en el que trabajan de forma coordinada diversos centros de experimentación e investigación como el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), el Servicio de Sanidad y Certificación Vegetal (SSCV) y la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), ocupa un lugar central y prioritario el proyecto de mejora del control biológico del minador mediante introducción de enemigos naturales desde otros países.

Dicho trabajo consta de varias etapas como la importación de los enemigos naturales, su mantenimiento en insectario, su cría masiva y liberación en campo, y por último observaciones sobre su aclimatación, establecimiento y dispersión. Recientemente se ha expuesto en una publicación el proceso de cría masiva realizado en tres centros de la Comunidad Valenciana (Serrano et al, 1996). En este trabajo pretende-

mos exponer las primeras observaciones realizadas durante 1996 en relación a la aclimatación, establecimiento y dispersión de los agentes de control biológico introducidos. Son datos iniciales del primer año que deben considerarse como provisionales en relación con el éxito futuro de las especies de parasitoides. Además el proceso de introducción no ha concluido sino que se va a continuar varios años más, tanto aumentando la cantidad de insectos liberados, como introduciendo nuevas especies que puedan considerarse de interés.

IMPORTACIÓN DE ENEMIGOS NATURALES

La importación de enemigos naturales se ha realizado básicamente por dos procedimientos, recogiendo en otros países donde se crían en insectario o se encuentran en el campo y trayéndolos personalmente, o bien solicitando a otros países envíos por correo de especímenes que se encuentran en sus insectarios. Entre los años 1995 y 1996 se han realizado estas importaciones en 7 ocasiones, introduciendo en cada caso una o más especies de parasitoides

Tabla 1. Importaciones de parasitoides del minador de hojas de cítricos realizadas a España desde otros países en los años 1995 y 1996.

FECHA	ESPECIE	PROCEDENCIA	CRIADO	SOLTADO	RECUPERADO
marzo 95	<i>Ageniaspis citricola</i> (TL)	Australia	SI	SI	NO
	<i>Cirrospilus ingenuus</i>		SI	NO	NO
mayo 95	<i>Ageniaspis citricola</i> (TL)	Israel	SI	SI	NO
	<i>Cirrospilus ingenuus</i>		SI	NO	NO
enero 96	<i>Ageniaspis citricola</i> (TL)	Florida	SI	NO	NO
febrero 96	<i>Ageniaspis citricola</i> (TL)	Marruecos	SI	SI	SI
marzo 96	<i>Ageniaspis citricola</i> (TL)	Israel	SI	SI	SI
junio 96	<i>Ageniaspis citricola</i> (TW)	Florida	SI	SI	SI
septiembre 96	<i>Quadrastichus</i> sp.	Italia	SI	SI	SI

□ Universitat Politècnica de València
Servicio de Sanidad y Certificación Vegetal en Almassora (Castellón)
Servicio de Sanidad y Certificación Vegetal en Silla (Valencia)

(tabla 1). El lugar de origen ha sido generalmente otros países donde se está trabajando también en el mismo tema, y a su vez estos países han obtenido la línea original de varias zonas del sudeste asiático, especialmente Tailandia. Dicho proceso continuará en el futuro. A su vez desde los insectarios españoles se han realizado envíos en varias ocasiones a insectarios de otros países.

Quizás la importación que más éxito ha tenido ha sido la resultante de una visita realizada a primeros de marzo de 1996 a un insectario cercano a Rabat (Marruecos). La línea de *Ageniaspis citricola* obtenida de allí (procedente a su vez de Tailandia vía Florida) permitió el establecimiento de crías continuas y abundantes en los tres centros que llevaron a cabo la mayor parte de las sueltas realizadas en 1996.

INSECTOS CRIADOS Y SOLTADOS EN CAMPO

Entre los tres centros valencianos destinados a la multiplicación masiva se han criado en 1996 unos 200.000 individuos correspondientes a tres tipos, dos razas distintas de *Ageniaspis citricola*, una originaria de Tailandia y otra de Taiwan, y *Quadrastichus* sp. La razón de introducir dos razas de *A. citricola* es que sospechamos que la raza de Tailandia está más adaptada al clima húmedo tropical típico de aquella zona, mientras que la de Taiwan procede de una zona de clima más similar al nuestro mediterráneo y suponemos que puede sobrevivir mejor en condiciones de sequedad. En cualquier caso el aspecto externo de los insectos de las dos razas es idéntico.

De los tres insectos se han liberado en campo unos 150.000 individuos y el resto se ha destinado al rei-

nicio de nuevas crías o al mantenimiento de las colonias. La mayor parte de las sueltas corresponden a la raza de *Ageniaspis citricola* procedente de Tailandia. De la raza de Taiwan se han soltado unos 10.000 y de *Quadrastichus* unos 5.000 especímenes.

Se han tenido en cuenta varios aspectos para maximizar las posibilidades de éxito de las sueltas en campo. Las poblaciones de insectos introducidos deben liberarse en parcelas donde no se realicen aplicaciones de plaguicidas. Hemos procurado que los adultos liberados encuentren estadios sensibles del hospedante en el momento de la liberación (huevos y L1 en el caso de *A. citricola*, y L2 y L3 en el caso de *Quadrastichus* sp.). Se considera también que es más adecuado realizar liberaciones consecutivas en los mismos lugares que liberar pocos insectos en muchos sitios ya que de la primera forma es más fácil alcanzar un número mínimo de insectos para asegurar

la presencia de ambos sexos y reducir el efecto de la dispersión de los parasitoides liberados. No existe forma de estimar el número mínimo de parasitoides a liberar para lograr el establecimiento pero está claro que dicho mínimo existe y el no llegar a él puede ser la causa del fracaso en la introducción (DeBach y Bartlett, 1975).

Se han empleado tres procedimientos para la liberación en campo, el envío de adultos en recipientes de cristal o plástico, el envío de hojas o brotes de cítricos con minador parasitado en bolsas de plástico o el transporte de plantones de cítricos en macetas que se sitúan debajo de los árboles. El último procedimiento es el más seguro pero los dos primeros son más adecuados para envíos a zonas distantes por correo y pueden dar buen resultado si se realizan con rapidez.

Los parasitoides han sido liberados en casi todas las zonas españolas productoras de cítricos (tabla 2). En la Comunidad Valenciana la liberación se ha realizado en unos 100 puntos de suelta repartidos por las principales comarcas cítricas y ha sido realizada por técnicos e investigadores del programa en colaboración con técnicos de cooperativas (ATRIAS y ADV) o empresas privadas.

Tabla 2. Número de parasitoides exóticos del minador de hojas de cítricos liberados en distintas provincias españolas en 1996.

PROVINCIA	NUMERO INSECTOS	RECUPERADO
Valencia	65.000	SI
Castellón	50.000	SI
Alicante	12.000	SI
Huelva	6.200	
Tenerife	3.000	SI
Malaga	2.500	
Gran Canaria	2.000	SI
Ibiza	2.000	
Tarragona	1.600	SI
Mallorca	1.500	
Murcia	1.400	
Almeria	1.200	
Sevilla	100	
total	148.500	



Foto 1. El método más seguro de suelta de parasitoides del minador es el de colocación de los plantones donde se ha criado debajo de los árboles. También se ha utilizado la colocación de bolsas abiertas conteniendo hojas con pupas de los parasitoides, o sueltas directas de adultos.



Foto 2. La existencia del parasitoide introducido *Ageniaspis* de una parcela se detecta al observar varias pequeñas pupas de color marrón alineadas (generalmente dos o tres) en el interior de la cámara ninfal del minador.



Foto 3. La pupa del parasitoide exótico *Quadrastichus* se puede distinguir de la de otros parasitoides nativos por su color anaranjado.



Figura 2. Dispersión del parasitoide introducido *Ageniaspis citricola* desde una parcela de suelta (en color verde) en la huerta de Godella (Valencia) a parcelas de cítricos vecinas. Se han marcado en rojo las parcelas donde se encontró el parásito y en azul aquellas donde se buscó y no se encontró. El método de búsqueda ha sido abrir y observar 100 cámaras pupales. Los círculos representan 100 y 200 metros de radio. La suelta se realizó en julio de 1996 y la búsqueda en octubre del mismo año.

PROCESO DE COLONIZACIÓN

Existen varias formas de evaluar la eficacia de las sueltas. A largo plazo el éxito del programa se debe medir por la capacidad de los insectos introducidos de reducir de forma sustancial la población de la plaga. Para ello debe cuantificarse la dinámica poblacional del minador y compararla con la existente antes de las introducciones. Para observar dicha reducción se requiere un tiempo, de forma que la población del enemigo natural introducido tenga tiempo de multiplicarse, dispersarse y adaptarse a las condiciones de la zona a fin de alcanzar un nivel poblacional tal que pueda influir en la dinámica poblacional de la plaga. El tiempo requerido para ello puede ser aproximadamente de uno a tres años.

A corto plazo se pueden tener datos sobre el funcionamiento de las introducciones observando otros aspectos como la supervivencia de los insectos introducidos en el campo durante una o varias generaciones,

su establecimiento durante al menos un período de un año desde el momento en que se han hecho las últimas sueltas, su capacidad de dispersión desde los puntos de suelta o los niveles de parasitismo que produce sobre la población de plaga.

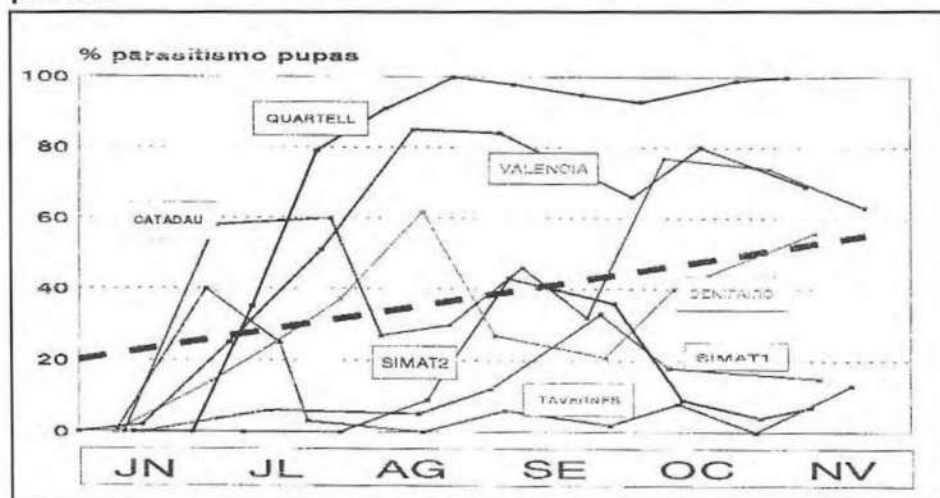
En 80 de las parcelas de suelta de la Comunidad Valenciana se han realizado uno o varios muestreos después de la liberación de enemigos naturales para comprobar si se recuperaban y mantenían sus poblaciones. De ellos hemos observado la presencia de parasitoides en algún muestreo en 60 casos, lo que representa una proporción bastante elevada de las muestras observadas. En muchas de estas parcelas los parasitoides se encontraron en campo apenas un mes después de las sueltas. En algunas de estas parcelas se realizaron muestreos a intervalos regulares y se observó que en general los parasitoides se mantenían con el tiempo durante varias generaciones de su hospedante.

Se observaron también recuperaciones de parasitoides en Tarragona y las islas de Tenerife y Gran Canaria. En esta última se ha podido observar ya en marzo de 1997 que el parasitoide *Ageniaspis citricola* ha sobrevivido al invierno en aquella zona. En otras zonas de España sin embargo no se ha podido conseguir la recuperación de *A. citricola* a pesar de que en algunos casos el número de insectos liberado fue bastante elevado. En Alicante no se recuperaron insectos en la mayoría de las parcelas de suelta y sólo se consiguió en algunas de la zona norte de la provincia. También resultaron negativas varias liberaciones realizadas en Murcia, Málaga, Huelva, Mallorca, Ibiza o Almería.

NIVELES DE PARASITISMO ENCONTRADOS

El procedimiento para cuantificar el nivel de parasitismo producido por el parasitoide *Ageniaspis citricola* sobre las poblaciones del minador de hojas de cítricos ha sido el de abrir cámaras pupales cerradas de éste y comprobar la existencia en su interior bien de la pupa del minador, bien de pupas del parasitoide en número de dos a tres en cada cámara ninfal. Como ejemplo hemos representado datos del nivel de parasitismo en varias parcelas que se han muestreado a intervalos regulares después de las liberaciones repetidas de *Ageniaspis* realizadas en los meses de junio y julio de 1996 (figura 1). Encontramos situaciones muy variables desde parcelas en las que inicialmente aumenta y posteriormente se mantiene a niveles muy bajos (caso de Tavernes de la Valldigna) hasta parcelas en las que crece rápidamente y se mantiene a niveles cercanos al 100% durante el verano y otoño (caso de Quartell), pasando por situaciones intermedias (casos de Simat o Catadau).

Figura 1. Evolución del nivel de parasitismo sobre el minador de hojas de cítricos por el parasitoide introducido *Ageniaspis citricola* en siete parcelas de cítricos donde se realizaron sueltas entre junio y julio de 1996. En la parcela Simat 2 se liberó la línea procedente de Taiwan, y en las restantes la procedente de Tailandia. La línea gruesa de trazos representa la evolución media de todas las parcelas.



Hay que destacar en este seguimiento dos aspectos positivos. En primer lugar el parasitoide *Ageniaspis* se mantiene aunque parasite a niveles muy bajos y en segundo lugar el parasitismo medio global de las siete parcelas de la figura aumenta progresivamente desde un 20% inicial hasta cerca del 60% al final de los muestreos en el mes de noviembre.

EXPANSIÓN DESDE LOS PUNTOS DE SUELTA

Se han realizado también muestreos a cierta distancia de los puntos iniciales de suelta a fin de comprobar si el parasitoide no sólo se mantenía sino también era capaz de dispersarse y establecerse en parcelas cercanas. La distancia a la que se muestreaba se ha ido incrementando a medida que lo hemos ido encontrando. Hemos podido comprobar que en la mayoría de los puntos de suelta en que se recuperó se ha producido su dispersión hasta unos 100 metros de distancia. En la tercera parte de los casos se ha dispersado hasta 300 metros del punto inicial. La dispersión a distancias mayores ha sido menos común: en cuatro parcelas se ha encontrado a 1000 metros y en dos a 3000 metros del punto de suelta. De nuevo consideramos que se trata de una observación muy positiva respecto a las posibilidades del *Ageniaspis citricola* como agente del control biológico del minador en nuestros cítricos. En la figura 2 (ver pág. 134) se muestra un ejemplo típico del proceso de expansión observado desde un punto de suelta en una parcela de Godella (cercana a la ciudad de Valencia) en la que el parasitoide se dispersó en 3 meses a las parcelas vecinas en un radio comprendido entre 100 y 200 metros.

Estos resultados se refieren fundamentalmente a la línea de

Ageniaspis citricola procedente de Tailandia. El comportamiento de las sueltas de la línea de esta especie procedente de Taiwan parece ser similar en las pocas parcelas donde se ha liberado. En cuanto al *Quadrastichus* sp. se iniciaron las sueltas en octubre y sólo en algún caso dio tiempo a confirmar la recuperación en la zona de Castellón.

OBSERVACIONES EN OTROS PAÍSES

Programas de control biológico por importación de enemigos naturales se están aplicando de forma similar al nuestro en otros países donde el minador se ha introducido y constituye una grave plaga desde principios de los años 90. En Australia *Ageniaspis citricola* se estableció con facilidad en 1992-93 en la zona de clima tropical, mientras que en la zona de clima mediterráneo no se consiguió establecerlo a pesar de algunas recuperaciones iniciales (Smith y Beattie, 1996). En Florida, donde el clima es tropical, se liberó *Ageniaspis citricola* en 1994 (Knapp et al, 1995) y ese mismo año se observaron recuperaciones en la mayoría de las parcelas de suelta. Al año siguiente y en 1996 se observó la multiplicación y dispersión del insecto por toda la zona citrícola de forma que en la actualidad se considera que está presente en todos los huertos. Sus tasas de parasitismo son variables pero a menudo superan el 60% y en muchos lugares alcanzan el 100%. Se han observado ya al final de 1996 reducciones importantes de las poblaciones del minador en muchas zonas como consecuencia aparentemente del parasitoide (Hoy et al, 1996; M.Hoy, comunicación personal, 1997).

En la zona mediterránea el primer país que importó parasitoides fue Israel. Entre 1994 y 1995 introduje-

ron hasta seis especies distintas y consiguieron la recuperación en campo y el establecimiento temporal de cuatro de ellas. Las observaciones realizadas en campo en 1996 indican que la importancia de las especies por su recuperación y nivel de parasitismo es, de mayor a menor, *Cirrospilus ingenuus*, *Semielacher petiolatus*, *Quadrastichus* sp. y *Ageniaspis citricola*. Esta última se ha recuperado en muy pocas parcelas y con bajos niveles de parasitismo. Además, en la zona norte del país, la primera donde apareció el minador y donde se realizaron las introducciones, empiezan a observarse menores poblaciones de la plaga posiblemente como consecuencia de la acción combinada de los parásitos autóctonos y los introducidos (Y. Rossler, comunicación personal, 1996; 1997). En Siria introdujeron *Ageniaspis citricola* en 1995 y observaron su recuperación durante ese mismo año en todas las parcelas donde se soltó. Sin embargo en 1996 sus poblaciones han sido muy bajas y prácticamente ha desaparecido. En 1996 han introducido otras especies y *Semielacher petiolatus* es la que muestra mayor actividad en campo (Al Mouie, comunicación personal, 1997). En Marruecos se han realizado sueltas de *Ageniaspis citricola* en 1996, recuperándolo con facilidad en la zona norte pero sin éxito en la zona sur más cálida (R. Abdelhak, comunicación personal, 1997). En Italia han observado recuperaciones de *Quadrastichus* sp. introducido en 1996 (G. Siscaro, comunicación personal, 1997). Sabemos que han realizado también introducciones de *A.citricola* en otros países del mediterráneo como Siria, Turquía y Túnez, con evidencia de recuperaciones pero sin más datos.

DISCUSIÓN

El proceso seguido en el programa del control del minador de hojas de cítricos se enmarca en lo que se denomina tradicionalmente en la literatura como "Control Biológico Clásico" que se puede definir como la importación de un enemigo natural en una zona donde una especie exótica se ha convertido en plaga al establecerse sin su complejo de enemigos naturales adaptados y en ausencia de enemigos naturales locales eficaces.

El control biológico clásico tiene como eje la colonización de una especie o grupo de especies. El objetivo fundamental de la colonización es conseguir el establecimiento permanente de las especies importadas en la zona. Sin embargo el objetivo del programa del control biológico no es únicamente el establecimiento permanente sino sobre todo que el enemigo natural consiga reducir la población de plaga a niveles tales que no cause daños económicos al cultivo.

Tenemos por tanto dos procesos evaluables, el de la colonización y el de la reducción de la población de la plaga. A su vez la colonización presenta una serie de etapas, la recuperación, el establecimiento temporal y el establecimiento permanente.

La recuperación se detecta muestreando un tiempo después de las liberaciones a fin de comprobar que el insecto ha desarrollado al menos una generación en el campo. Si se observan recuperaciones sucesivas podemos considerar que se ha conseguido el establecimiento pero es un establecimiento provisional. Según Van Driesche y Bellows (1996) una población se considera establecida provisionalmente cuando se observan individuos reproductivos del enemigo

natural un año después de la liberación. El parasitoide ha de sobrevivir durante varios años a fin de demostrar que es capaz de tolerar no sólo las condiciones climáticas habituales sino extremos excepcionales de clima. Se considera por ello que se requieren al menos tres años antes de dar un establecimiento como permanente (DeBach y Bartlett, 1975). Según lo anterior el proceso de introducción de enemigos naturales para el control del minador de hojas de cítricos en nuestro país puede considerarse satisfactorio con *Ageniaspis citricola* ya que se ha superado con éxito la etapa de recuperación que es el primer paso del proceso de colonización, aunque habrá que esperar a mediados del año 97 para poder considerar que se ha alcanzado el establecimiento provisional y hasta dentro de dos o tres años no podremos dar el establecimiento de este parasitoide como definitivo.

Además de la colonización existe otro aspecto del proceso que es evaluable y es el de mayor interés desde el punto de vista económico. Consiste en la reducción de la población de plaga a niveles que no causen daño económico al cultivo como consecuencia de la acción del parásito. El grado de supresión de la plaga por parte del enemigo natural se puede cuantificar a partir de muestreos de las poblaciones antes y después de las sueltas. Observaciones realizadas de diversos casos de control biológico con éxito referenciados en la literatura indican que el grado de reducción de plaga requerido para considerar un éxito en control varía en función del umbral económico de la plaga pero en general ha de ser elevado, dividiendo por 100 a 1000 veces la densidad poblacional del fitófago antes de la introducción (Van Driesche y Bellows, 1996). No existe

un protocolo concreto para la cuantificación del impacto de los enemigos naturales en programas de control biológico clásico y la mayoría de estudios cuantitativo se realizan midiendo la densidad poblacional durante una serie de años antes y después de la introducción, aunque recientemente se han llevado también a cabo estudios detallados de cambios poblacionales en el mismo año de las sueltas y cambios en la estructura de edad de las poblaciones inmediatamente después de las introducciones (Jervis y Kidd, 1996).

El tiempo requerido para que se empiecen a observar descensos de población de plaga es variable y hace falta que el parasitoide, una vez establecido, se difunda por toda la zona citrícola y alcance niveles poblacionales suficientes para reducir la población de la plaga, lo que requerirá el paso de varias generaciones de ésta. Dada la gran movilidad del minador, puesta de manifiesto en el rapidísimo proceso de dispersión que se observó el año de su introducción, suponemos que las parcelas se reinfestan con poblaciones de plaga que pueden proceder de zonas bastantes alejadas, posiblemente de varios kilómetros de distancia, por lo que el parasitoide ha de estar establecido en una amplia zona a fin de que empiece a apreciarse su efecto de reducción de la población del minador.

CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta la experiencia de otros países que ponen de manifiesto la importancia de las condiciones climáticas de la zona para el establecimiento de los parasitoides, y el comportamiento de las introducciones en nuestro país en este primer año del proyecto, con provincias o

zonas en las que se ha recuperado *A. citricola* con éxito y otras en las que no se ha conseguido la recuperación, no podemos estar seguros de que *A. citricola* vaya a funcionar bien en los cítricos españoles y en caso de que se establezca si lo hará en todas las zonas citricolas o sólo en algunos lugares menos secos. Por ello durante 1997 el programa de control biológico en nuestro país abordará la continuación de la difusión de *A. citricola* y de otra especie cuyas sueltas iniciamos ya a finales del 96, *Quadrastichus* sp. Procederemos también a la importación de alguna especie más. El proceso de introducción y difusión se realizará tanto a

partir de individuos criados en los insectarios como a partir de brotes recogidos de parcelas donde ya se han establecido poblaciones importantes de dichos parasitoides.

BIBLIOGRAFÍA

DEBACH, P. y BARTLETT, B.R. 1975 - Capítulo 14. Métodos de colonización, recuperación y evaluación. (pp. 483-511). En: P. DeBach "Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas". Ed.: C.E.C.S.A. 949 pp.

HOY, M.A., JOHNSON, S. y NGUYEN, R. 1996 - Classical biological control of the citrus leafminer: in theory and practice. In Proceedings of "Managing the citrus leafminer": 16-20. Orlando, Florida. April 23-

25, 1996.

JERVIS, M. y KIDD, N. 1996 - Insect natural enemies. Practical approaches to their study and evaluation. Ed.: Chapman & Hall. ISBN 0-412-39900-8. 491 pp.

KNAPP, J. L., L. G. ALBRIGO, H.W. BROWNING, R. C. BULLOCK, J. B. HEPPNER, D. G. HALL, M. A. HOY, R. NGUYEN, J. E. PEÑA, P. A. STANSLY. 1995 - Citrus leafminer *Phyllocnistis citrella* Stainton: Current status in Florida - 1994. Publ. Flo. Coop. Ext. Ser. I.F.A.S. Univ. Florida. Gainesville. 26 pp.

SMITH, D. y BEATTIE, G.A.C. 1996 - Australian citrus IPM and citrus leafminer. In Proceedings of "Managing the citrus leafminer": 34-46. Orlando, Florida. April 23-25, 1996.

VAN DRIESCHE, R.G. y BELLOW, T.S. 1996 - Biological control. Ed.: Chapman & Hall. ISBN 0-412-02861-1. 539 pp.

PLANTOSAN: la bolsa térmica que ayuda a tus plantones

- Uniformidad de temperatura
- Circulación de aire, luz y agua
- Mayor y mejor crecimiento
- Control Físico de Plagas:
 - Minador • Pulgón
 - Mosca Blanca • Araña
 - Cochinillas • Etc...
- Reducción del grado de contaminación
- Protección del medio ambiente



J.V. CARRATALA, S.L. Avda. de les Corts Valencianes, 41
Teléfono: (964) 51 27 01 • Fax: (964) 57 10 33 • 12530 BURRIANA (Castellón)